

Novel pharmacological strategies to reduce acute radiation injury

Citation for published version (APA):

Berbée, M. (2011). *Novel pharmacological strategies to reduce acute radiation injury*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20111021mb>

Document status and date:

Published: 01/01/2011

DOI:

[10.26481/dis.20111021mb](https://doi.org/10.26481/dis.20111021mb)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Summary

Exposure to high doses of ionizing radiation may occur in both non-clinical and clinical settings. Accidents in nuclear power plants or acts of radiological terrorism are scenarios in which human beings may be exposed to high radiation doses in an uncontrolled, non-clinical manner. Clinical exposure to high radiation doses occurs during treatment with radiotherapy. In radiotherapy ionizing radiation is used to treat cancer.

Exposure to high radiation doses may cause serious injury to normal, i.e., non-cancerous tissues. Radiation-induced normal tissue injury may result in substantial morbidity and mortality after non-clinical exposure and is the most important cause of treatment related side effects during radiotherapy. Hence, there is an urgent need for the development of agents that can prevent or reduce normal tissue radiation injury.

In general, the research presented in this thesis was focused on the development of radiation countermeasures to be used before or after radiological emergencies. Nevertheless, the described drugs are strong candidates for development as “dual utility” drugs, that is, they could be used both as radiation countermeasure and clinically to make radiation therapy safer and more effective.

This thesis focuses on two promising new radioprophylactic and mitigating agents. The 2 compounds in question are the vitamin E analog γ -tocotrienol (GT3) and the novel somatostatin analog SOM230 (Pasireotide).

The results of the research related to γ -tocotrienol are described in chapters 2-6, whereas chapter 7 and 8 focus on SOM230.

γ -tocotrienol

There is significant interest in developing vitamin E analogs as radioprophylactic agents, because of their potent anti-oxidant properties and lack of performance degrading side effect. GT3 has recently been shown to be more effective in decreasing total body irradiation-induced death than α -tocopherol, the most abundant and commonly used vitamin E analog.

In **chapter 2**, we confirm that a single prophylactic dose of GT3 greatly reduces lethality after total body irradiation (TBI) in mice. Moreover, we show that in addition to stimulating hematopoietic recovery, GT3 also reduces radiation-induced intestinal injury and vascular oxidative stress. Interestingly, GT3 appears to exert its effect on vascular free radical production through inhibition of the enzyme 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase.

Chapter 3 shows that the beneficial effect of GT3 on acute radiation toxicity can be enhanced by the addition of the phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline (PTX). Combined treatment with GT3 and PTX increases post-TBI survival over GT3 alone by

a mechanism that may depend on induction of hematopoietic stimuli. GT3+PTX does not reduce gastro-intestinal toxicity or vascular oxidative stress compared to GT3 alone. Furthermore, we showed that, in the current experiment, the beneficial effects on post-irradiation mortality of either drug alone or in combination on post-irradiation mortality do not require the presence of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) enzyme.

In order to improve our understanding of the mechanisms responsible for the differences in radioprotective potential of the various vitamin E analogs or so called tocots, and to elucidate why GT3 is a more potent radioprotectant than most other tocots, we performed a series of gene expression experiments of which the results are reported in **chapter 4**. GT3 was far more potent in inducing gene expression changes than α -tocopherol and γ -tocopherol, the 2 other tocots that were used. GT3 induced multiple changes in functional gene clusters known to be of importance in de cellular response to radiation exposure.

In **chapter 5**, evidence is provided for a possible role for tetrahydrobiopterin (BH4) in the mechanism by which GT3 reduces post-irradiation vascular oxidative stress. BH4 is an essential cofactor for all nitric oxide synthase (NOS) enzymes and a critical determinant of NOS function. Under conditions of oxidative stress, such as after radiation exposure, the availability of BH4 might be reduced due to rapid oxidation of the molecule. Insufficient availability of BH4 leads to uncoupling of eNOS. In an uncoupled state, eNOS will produce the highly oxidative radical superoxide and peroxynitrite at the cost of nitric oxide. We have shown that BH4 levels are indeed reduced in the early post-irradiation phase and that exogenous administration of BH4, like GT3, reduces post-irradiation vascular oxidative stress. Moreover, GT3 was proven to reduce the expression of guanosine triphosphate cyclohydrolase 1 (GTPCH) feedback regulatory protein (GFRP), one of the key regulatory proteins in BH4 metabolism. GT3 may thus exert some of its beneficial effects on radiation-induced vascular oxidative stress by counteracting the decrease in BH4.

Since inadequate supplies of BH4 in the early post-irradiation phase may play an important role in the pathogenesis of radiation-induced endothelial dysfunction and subsequent tissue injury, improving the availability of BH4 might be a novel strategy to reduce radiation toxicity. **Chapter 6** reviews possible strategies to prevent BH4 deficiencies and thereby reduce radiation injury.

SOM230 (Pasireotide)

Chapter 7 and 8 focus on the radioprophylactic and mitigating effects of the novel somatostatin analog SOM230.

In **chapter 7**, we show that SOM230 increases survival after TBI when started either 2 days before or 4 hours after radiation exposure. SOM230 appears not to act as a cytoprotector, but to exert its effect by preserving post-irradiation intestinal barrier

function. The beneficial effects on the intestine appear to depend on inhibition of pancreatic enzyme secretion. SOM230 did not influence hematopoietic injury or intestinal crypt cell survival. However, it did preserve the intestinal mucosal surface area and prevented bacterial translocation from the intestines to the liver.

In **chapter 8**, the results of a study to determine the maximal post-irradiation administration time window for SOM230 are reported. SOM230 was shown to be an excellent radiation mitigator with a post-exposure time window in excess of 48 hours.

The main findings of this thesis are outlined and discussed in **chapter 9**. Moreover, perspectives on future developments to improve the efficacy of radioprophylactic and mitigating strategies are provided and the possible use of GT3 and SOM230 during radiotherapy is discussed.

In conclusion, both GT3 and SOM230 were shown to reduce radiation-induced injury and mortality in mice. We were able to, at least partly, determine the mechanism of action of these 2 different compounds. Further research is needed to determine the safety and efficacy of these agents if used to reduce radiation injury in human beings being exposed to ionizing radiation in non-clinical emergency situations or in patients receiving radiotherapy.

Samenvatting

Samenvatting

Blootstelling aan hoge doses ioniserende straling kan zowel in niet-klinische als klinische situaties voorkomen. Niet-klinische stralingsblootstelling kan optreden na ongelukken in nucleaire reactoren of bij terroristische aanslagen met radioactief materiaal. In dergelijke situaties kan de bevolking op een ongecontroleerde manier bloot worden gesteld aan ioniserende straling. Klinische blootstelling aan hoge stralingsdoses gebeurt tijdens radiotherapie. In de radiotherapie wordt ioniserende straling gebruikt voor de behandeling van kanker.

Blootstelling van normale, gezonde weefsels aan hoge stralingsdoses kan ernstige schade veroorzaken. Stralingsgeïnduceerde normale weefschade kan na niet-klinische blootstelling leiden tot substantiële morbiditeit en mortaliteit en is bovendien de belangrijkste oorzaak van bijwerkingen tijdens radiotherapie. Gezien de ernstige gevolgen van acute stralingsgeïnduceerde weefschade, is het noodzakelijk dat er stoffen ontwikkeld worden die stralingsschade kunnen voorkomen of verminderen.

Het onderzoek dat wordt gepresenteerd in deze thesis richt zich voornamelijk op de ontwikkeling van agentia die voor of na nucleaire ongelukken/aanslagen gebruikt kunnen worden. Echter, de beschreven geneesmiddelen hebben de potentie om zich te ontwikkelen als zo genaamde “dual utility drugs”. Dit wil zeggen dat ze mogelijk bruikbaar zijn zowel in rampscenarios als gedurende radiotherapie.

In deze thesis wordt onderzoek gepresenteerd met betrekking tot twee veelbelovende nieuwe stoffen die stralingsschade kunnen voorkomen dan wel verminderen. Het betreft hier de vitamine E vorm γ -tocotrienol (GT3) en het nieuwe somatostatine analogon SOM230 (Pasireotide).

De resultaten aangaande γ -tocotrienol worden beschreven in de hoofdstukken 2 tot en met 6. Hoofdstukken 7 en 8 richten zich op SOM230.

γ -tocotrienol

De verschillende vitamine E vormen zijn allen sterke antioxidanten met weinig tot geen bijwerkingen. Het zijn daarom in potentie geschikte stoffen voor het voorkomen van stralingsschade. Recentelijk werd aangetoond dat de vitamine E vorm γ -tocotrienol (GT3) effectiever is in het verminderen van mortaliteit na totale lichaamsbestraling dan α -tocoferol. α -Tocoferol is de meest voorkomende en gebruikte vorm van vitamine E.

In **hoofdstuk 2** bevestigen we dat een eenmalige toediening van GT3 de mortaliteit van totale lichaamsbestraling vermindert in muizen. Bovendien tonen we aan dat GT3 naast het stimuleren van beenmergherstel ook stralingsgeïnduceerde darmschade en de vorming van vrije radicalen in bloedvaten vermindert. Het effect van GT3 op

endotheliale oxidatieve stress lijkt gemedieerd te worden door remming van het enzym 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase.

In **hoofdstuk 3** wordt aangetoond dat de gunstige effecten van GT3 versterkt kunnen worden door toevoeging van de phosphodiësterase remmer pentoxifylline (PTX). Behandeling met GT3 én PTX verbeterde de overleving na stralingsblootstelling ten opzicht van behandeling met enkel GT3 of PTX. GT3+PTX heeft in vergelijking met enkel GT3 geen toegevoegd effect op de vermindering van darmschade of vasculaire oxidatieve stress. In de beschreven experimenten waren de gunstige effecten van GT3, PTX en de combinatiebehandeling op mortaliteit, niet afhankelijk van de aanwezigheid van het endotheliale nitric oxide synthase (eNOS) enzym.

Zoals eerder vermeld zijn niet alle vitamine E vormen even effectief in het verminderen van stralingsschade. Met als doel de mechanismen achter dit verschil op te helderen, hebben we genexpressie experimenten uitgevoerd. De resultaten hiervan zijn te vinden in **hoofdstuk 4**. GT3 bleek een sterkere inductor van genexpressie veranderingen dan de andere 2 gebruikte vitamine E vormen: α -tocoferol en γ -tocoferol. GT3 induceerde verscheidene veranderingen in genclusters die van belang zijn voor de cellulaire respons op stralingsblootstelling.

In **hoofdstuk 5** wordt bewijs gepresenteerd voor een mogelijke rol van tetrahydrobiopterine (BH4) bij de vermindering van postradiatie vasculaire oxidatieve stress door GT3. BH4 is een essentiële cofactor voor alle nitric oxide synthase (NOS) enzymen en een kritische determinant van het functioneren van NOS. In situaties met oxidatieve stress, zoals na bestraling, kan de beschikbaarheid van BH4 verminderd zijn door oxidatie van het molecuul. Onvoldoende BH4 beschikbaarheid kan leiden tot “ontkoppeling” van de NOS reactie. Indien “ontkoppeld” zal NOS de radicalen superoxide en peroxynitriet produceren in plaats van stikstofmonoxide. We hebben aangetoond dat de BH4 concentratie inderdaad afneemt in de eerste dagen na bestraling. Tevens zagen we dat GT3 de expressie van het eiwit guanosine triphosphate cyclohydrolase 1 (GTPCH) feedback regulatory protein (GFRP) vermindert. GFRP is een van belangrijkste regulatoren van het BH4 metabolisme. Het is daarom mogelijk dat de gunstige effecten van GT3 op stralingsgeïnduceerde oxidatieve stress berusten op een verbetering van de BH4 beschikbaarheid.

Gezien het feit dat BH4 mogelijk een belangrijke rol speelt in de pathogenese van stralingsgeïnduceerde endotheel dysfunctie en de daaropvolgende weefselschade, kan het verbeteren van de BH4 beschikbaarheid een nieuwe strategie zijn om stralingsschade te verminderen. In **hoofdstuk 6** worden verschillende manieren besproken om postradiatie BH4 tekorten te voorkomen.

SOM230 (Pasireotide)

Hoofdstukken 7 en 8 behandelen de profylactische en mitigerende effecten van het nieuwe somatostatine analogon SOM230.

In **hoofdstuk 7** tonen we aan dat SOM230 de overleving verbetert wanneer de toediening 2 dagen voor of 4 uur na stralingsblootstelling wordt gestart. SOM230 lijkt niet als een antioxidant te werken, maar lijkt zijn effect te hebben door het in stand houden van de darmbarrière. Het gunstige effect op de darm lijkt te berusten op een vermindering van de secretie van pancreassappen. SOM230 had geen effect op beenmergschade of schade aan de stamcellen van de darm. SOM230 had echter wel een gunstig effect op het in stand houden van het darmslijmvlies en verminderde bovendien de migratie van darmbacteriën naar de lever

In **hoofdstuk 8** wordt een onderzoek naar het maximale interval tussen bestraling en start van SOM230 besproken. Het maximale interval waarbij SOM230 de stralingsgeïnduceerde mortaliteit vermindert was meer dan 48 uur.

In **hoofdstuk 9** worden tenslotte de belangrijkste bevindingen uit deze thesis besproken en bediscussieerd. Ook worden toekomstperspectieven beschreven ten aanzien van verdere ontwikkelingen om de effectiviteit van de beschreven middelen te verbeteren. Verder wordt het mogelijke gebruik van GT3 en SOM230 tijdens radiotherapie besproken.

Concluderend zijn zowel GT3 als SOM 230 effectief in het verminderen van stralingsgeïnduceerde weefselschade en mortaliteit in muizen. Het onderzoek heeft inzicht verschaft in de werkingsmechanismen van beide agentia. Aanvullend wetenschappelijk onderzoek is noodzakelijk voordat deze stoffen gebruikt kunnen worden om stralingsschade in mensen te verminderen.